

## STÉROLS DE L'ALGUE ROUGE *PHYCODRYS RUBENS* (DELESSERIACEAE, CERAMIALES)

J.C. DAUGUET\*, M. BERT\*, J. DOLLEY\* et J.J. BERT\*\*

\* Laboratoire de Biologie et Biotechnologies marines, Pharmacognosie et Phytochimie, U F III des Sciences Pharmaceutiques, 1 rue Vaubéard, 14000 Caen.

\*\* Laboratoire de Biologie et Biotechnologies marines, Phycologie, Université de Caen, Esplanade de la Paix, 14000 Caen.

**RÉSUMÉ** - L'étude des stérols de *Phycodrys rubens* Batters a été réalisée par CPG et CPG/masse. Le stérol majoritaire est représenté, comme chez de nombreuses Rhodophycées, par le cholestérol. Il est accompagné des stérols suivants: diméthyl 24-choladiène 5,22-3 $\beta$ ol; diméthyl 24-cholène 22-3 $\beta$ ol; déhydro 22-cholestérol; dihydrocholestérol; brassicastérol; épibrassicastérol; méthylène 24-cholestérol; stigmastérol; sitostérol; fucostérol; isofucostérol; propylidène 24-cholestérol. Du point de vue de la chimiotaxinomie, il est intéressant de constater la présence, chez cette Cériamiale, d'une part, d'un stérol  $\text{C}_{26}$ : le diméthyl 24-choladiène 5,22-3 $\beta$ ol, mis en évidence chez d'autres Rhodyméniales et Géliidiales et, d'autre part, d'un stérol en  $\text{C}_{30}$ : le propylidène 24-cholestérol, inhabituel chez les algues benthiques, mais signalé chez certaines Chrysophycées. Les implications systématiques de ces résultats sont évoquées.

**ABSTRACT** - The sterols of *Phycodrys rubens* have been studied by CPG and CPG/MS. The following sterols are identified: cholesterol; 24-dimethylchola-5, 22-dien-3 $\beta$ ol; 24-dimethylchol-22-en-3 $\beta$ ol; 22-dehydrocholesterol; dihydrocholesterol; brassicasterol; epibrassicasterol; 24-methylenecholesterol; stigmasterol; sitosterol; fucosterol; isofucosterol; 24-propylidenecholesterol. The most important sterol is cholesterol. The  $\text{C}_{26}$  sterol: 24-dimethylchola-5,22-dien-3 $\beta$ ol has already been observed in Rhodymeniales and Gelidiales. A  $\text{C}_{30}$  sterol: 24-propylidene cholesterol had just been observed in some Chrysophyceae. Taxonomic problems in relation with sterol composition were examined.

**MOTS CLÉS** : *Phycodrys rubens*, Délesseriaceae, Cériamiales, stérols, cholestérol, diméthyl 24-choladiène 5,22-3 $\beta$ ol, diméthyl 24-cholène 22-3 $\beta$ ol, déhydro 22-cholestérol, cholestérol, dihydrocholestérol, brassicastérol, épibrassicastérol, méthylène 24-cholestérol, stigmastérol, sitostérol, fucostérol, isofucostérol, propylidène 24-cholestérol.

### INTRODUCTION

Dans le cadre de recherches chimiotaxinomiques sur les algues rouges, les stérols totaux de *Phycodrys rubens* Batters ont été analysés.

Cette espèce appartient à la famille des Délesseriaceae (Rhodophycées, Cériamiales) qui est considérée par beaucoup d'auteurs comme l'une des plus évoluées (Kylin, 1956, Feldmann, 1978).

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les échantillons ont été trouvés dans la région de Barfleur (côte nord-est du Cotentin), sur des stipes de Laminaires récoltés en épaves, juste après leur échouage comme en témoigne la couleur des thalles.

Après lavages à l'eau distillée, dessiccation et pulvérisation, le matériel est épuisé au Soxhlet pendant 24h par le mélange chloroforme-méthanol: 2-1. L'extrait est évaporé à sec sous pression réduite et le résidu soumis à l'hydrolyse par la potasse alcoolique à 15%, au reflux, pendant 1h. L'insaponifiable est extrait à l'éther éthylique et fractionné par CCM préparative (support: gel de silice 60F<sub>254</sub>; solvant: dichlorométhane, deux migrations successives).

La fraction correspondant aux stérols (Rf=0,35) est éluée par l'hexane. L'éluat est évaporé à sec et le résidu traité par le mélange BSTFA-TMCS: 99-1 (V/V) à 80°C pendant 1h (obtention des dérivés TMS des stérols (Knapp, 1979).

La solution est analysée par CPG et CPG/Masse. La CPG est effectuée sur appareil CARLO-ERBA 2900; colonne: SE<sub>32</sub> (35m x 0,32mm); température initiale de la colonne 200°C, programmation de 2°C/mn jusqu'à 290°C; gaz vecteur: hélium, pression: 0,3 bar; température d'injection: 275°C.

Pour la CPG/Masse, le chromatographe est couplé à un spectromètre de masse JEOL JMS D 300. La spectrométrie est réalisée en impact électronique (énergie d'ionisation de 70 eV). Les stérols sont identifiés d'après leurs temps de rétention et

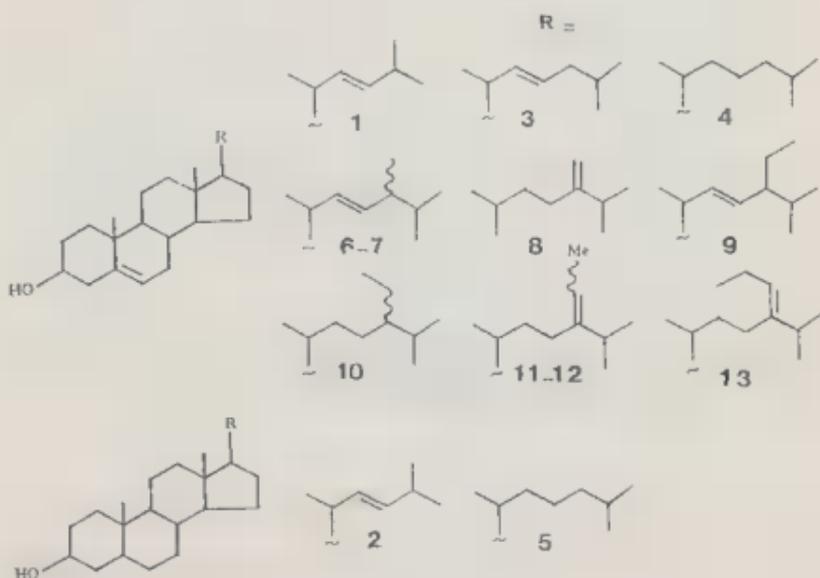


Fig. A - Structures des stérols mis en évidence chez *P. rubescens*.

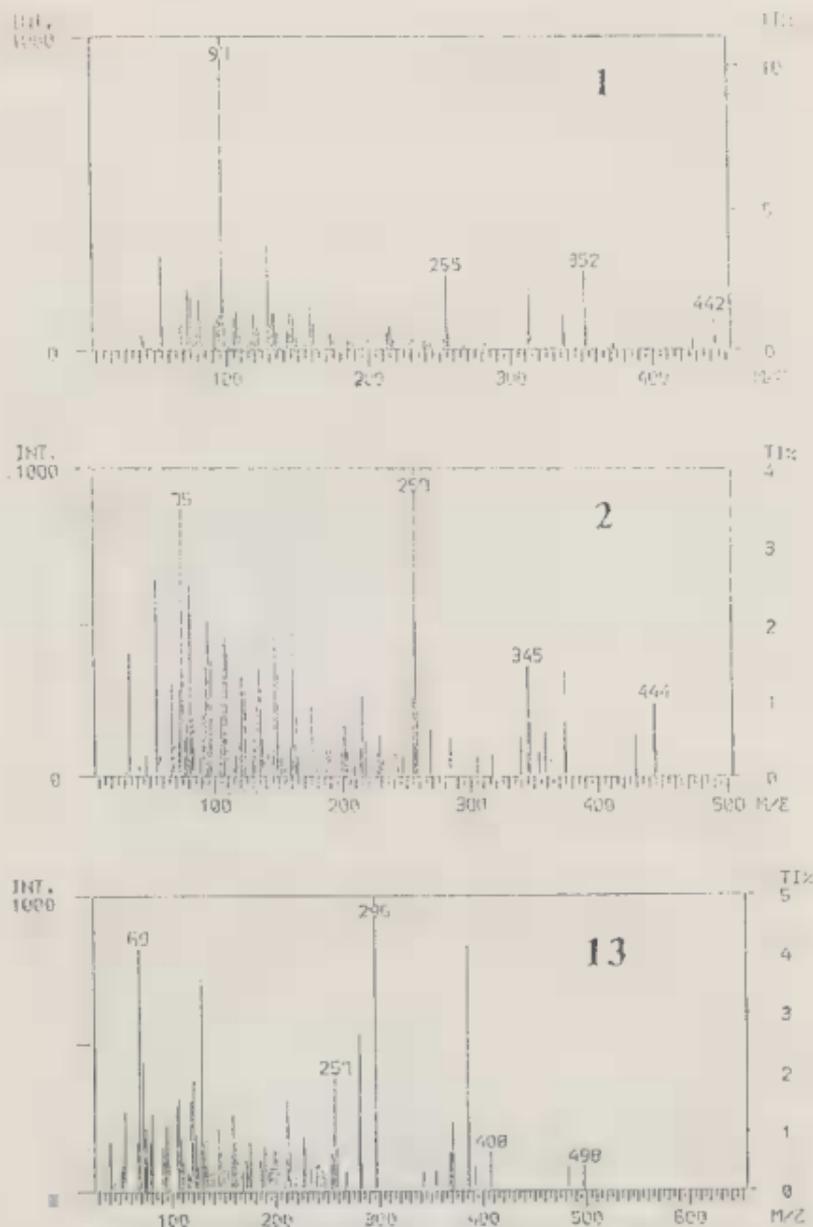


Fig. B - Spectres de masse des stérols (1), (2) et (13) (dérivés TMS) de *P. rubens*.

leurs spectres de masse par comparaison avec des témoins (stérols 1, 4, 5, 9, 10, 11 et 13, Fig. A), ou par référence aux données de la littérature (stérols 2, 3, 6, 7, 8 et 12, Fig. A) (Patterson, 1971; Chardon-Loriaux *et al.*, 1976; Volkman *et al.*, 1980).

Les abondances relatives sont exprimées en fonction de l'aire des pics obtenus en CPG.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les résultats sont présentés dans le tableau I; ils appellent les remarques suivantes:

Du point de vue chimiotaxinomie, il est intéressant de constater que

(1) chez *Phycodryis rubens* le stérol majoritaire est en  $C_{27}$  comme chez de nombreuses Cérariales (Fattorusso *et al.*, 1975; Gibbons *et al.*, 1967; Combaut & Saenger, 1984) il s'agit ici du cholestérol (4); rappelons cependant que chez certaines Rhodomélacées, ce sont des stérols en  $C_{28}$  qui prédominent (méthylène 24-cholestérol et campestérol), (Combaut & Saenger, 1984; Combaut *et al.*, 1981);

(2) cette espèce renferme des stérols en  $C_{26}$  (1 et 2, fig. A et B), composés qui n'ont été signalés que dans un petit nombre de Rhodophycées: *Palmaria palmata* (L.) O. Kuntze (Ferezon *et al.*, 1974, sous le nom de *Rhodymenia palmata* (L.) J. Ag.), *Gelidium amansii* Lamx., *Gelidium subcostatum* Okamura, *Callophylis adhaerens* Yamada (Chardon-Loriaux *et al.*, 1976) et *Delesseria sanguinea* (L.) Lamx. (Yvin, 1984);

(3) l'extrait étudié contient un stérol en  $C_{30}$  (13, Fig. A et B) dont le spectre de masse est identique à celui du propylidène 24-cholestérol mis en évidence chez certai-

STÉROLS		Abondance relative en %
$C_{26}$	diméthyl 24-betadiène 5, 22-3 $\beta$ ol (1)	0,15
	diméthyl 26-cetène 27 3 $\beta$ ol (2)	0,11
$C_{27}$	4 $\alpha$ -hydro 22-cholestérol (3)	8,95
	cholestérol (4)	56,20
	dihydrocholestérol (5)	2,76
$C_{28}$	5 $\alpha$ -stigmastérol (6) et 5 $\alpha$ -stigmastérol (7)	25,20
	méthylène 24-cholestérol (8)	5,45
$C_{29}$	stigmastérol (9)	0,94
	stigastérol (10)	1,05
	fucoestérol (11) et 3 $\alpha$ -fucoestérol (12)	2,01
$C_{30}$	propylidène 24-cholestérol (13)	0,49

Tableau I - Composition du contenu stérolique de *Phycodryis rubens* (Stérols totaux).

nes Sarcinochrysidales (Billard *et al.*, 1990; Raederstorff & Rohmer, 1984; Rohmer *et al.*, 1980).

Jusqu'à présent ce composé n'a pas été signalé chez les Rhodophycées. Nous ne pouvons écarter une éventuelle contamination des échantillons par des épiphytes microscopiques qui auraient résisté aux lavages mais, le pourcentage assez élevé de ce stérol (0,49% des stérols totaux) nous fait penser qu'il s'agit plutôt d'un métabolite de l'algue étudiée.

Du point de vue de la biochimie, la présence en quantité notable de stérols en C<sub>28</sub> et C<sub>29</sub> (6, 7, 8, 9, 10, 11 et 12, Fig. A), montre que comme d'autres Rhodophycées, (Gibbons *et al.*, 1967, Combaut & Saenger, 1984; Combaut *et al.*, 1981, Hayée-Memon *et al.*, 1991a et 1991b, Afaq-Husains *et al.*, 1991), en particulier des Cérariales (Gibbons *et al.*, 1967, Combaut & Saenger, 1984, Combaut *et al.*, 1981, Hayée-Memon *et al.*, 1991c), *Phycodrys rubens* est capable de biosynthétiser des stérols alkylés sur le C<sub>24</sub>.

#### BIBLIOGRAPHIE

- AFAQ-HUSAINS, SHAMEEL M., USMANGHANI K. & AHMAD M., 1991 - Phytochemical studies on *Dermonema abbottieae*, Nematinales, Rhodophyta. *Bot. Mar.*, 34: 215-220.
- BILLARD C., DAUGUET J.C., MAUME D. & BERT M., 1990 - Sterols and chemotaxonomy of marine Chrysophyceae. *Bot. Mar.* 33: 225-228.
- CHARDON-LORIAUX L., MORISAKI M. & IKEKAWA N., 1976 - Sterol profiles of red algae. *Phytochemistry* 15: 723-725.
- COMBAUT G. & SAENGER P., 1984 - Sterols of the Amansieae (Rhodomelaceae: Rhodophyta). *Phytochemistry* 23: 781-782.
- COMBAUT G., CODOMIER C., TESTE J. & PEDERSEN M., 1981 - The occurrence of C<sub>28</sub> sterols in red algae. *Phytochemistry* 20: 1748.
- FATTORUSSO E., MAGNO S., SANTACROCE C. & SICA D., 1975 - Sterols of some red algae. *Phytochemistry* 14: 1579-1582.
- FELDMANN J., 1978 - Les Algues in des ABBAYES H., CHADEFAUD M., FELDMANN J., de FERRE Y., GAUSSEN H., GRASSE P.P. & PERVOT A.R., *Précis de Botanique, I-Végétaux inférieurs*. Paris, Masson, pp. 95-320.
- FEREZON J.P., DEVYS M., ALLAIS J.P. & BARBIER M., 1974 - Sur le stérol à 26 atomes de carbone de l'algue rouge *Rhodomenia palmata*. *Phytochemistry* 13: 593-598.
- GIBBONS G.F., GOAD L.J. & GOODWIN T.W., 1967 - The sterols of some marine red algae. *Phytochemistry* 6: 677-683.
- HAYEE-MEMON A., SHAMEEL M., USMANGHANI K. & AHMAD M., 1991a - Phytochemical examination of *Hypnea valentiae*, Gigartinales, Rhodophyta. *Pakistan J. Bot.* 23: 33-39.
- HAYEE-MEMON A., SHAMEEL M., USMANGHANI K., AHMAD M., KHAN R. & AHMAD V.U., 1991b - Phytochemical studies on *Scinaia fascicularis*, Bonnemaisoniales, Rhodophyta. *Pakistan J. Pharmac. Sci.* 4: 27-34.
- HAYEE-MEMON A. SHAMEEL M., USMANGHANI K., AHMAD D. & AHMAD V.U., 1991 c - Phytochemical investigations on *Centroceras clavulatum*. Cerariales, Rhodophyta. *Pakistan J. Pharmac. Sci.* 4: 137-144.
- KNAPP D., 1979 - *Handbook of Analytical Derivatization Reactions*. New York, J. Wiley & Sons, 741p.
- KYLIN H., 1956 - *Die Gattungen der Rhodophyceen*, Lund, CWK Gleerups Förlag. 669 p.

- PATTERSON G.W., 1971 - Relation between Structure and Retention time of Sterols in Gas Chromatography. *Anal. Chem.* 43: 1165-1170.
- RAEDERSTORFF D. & ROHMER M., 1984 - Sterols of the unicellular algae *Nematochryopsis roscoffensis* and *Chrysoiila lamellosa*: isolation of (24E)-24-n-propylidenecholesterol and 24-n-propylcholesterol. *Phytochemistry* 23: 2835-2838.
- ROHMER M., KOKKE W., FENICAL W. & DJEBRASSI C., 1980 - Isolation of two new C<sub>30</sub> sterols, (24E)-24n-propylidene - cholesterol and 24-n-propylcholesterol, from a cultured marine Chrysophyte. *Steroids* 35: 219-231.
- VOLKMAN J.K., EGLINTON G. & CORNER E.D.S., 1980 - Sterols and fatty acids of the marine diatom *Biddulphia sinensis*. *Phytochemistry* 19: 1809-1813.
- YVIN J.C., 1984 - Etude chimique et pharmacologique d'une Rhodophycée *Delessertia sanguinea* (Linné) Lamouroux. Thèse Docteur Ingénieur (chimie), Université de Brest, 198 p.